312191 Leg

Dr. med. O. Kohnstamm
Königstein i. T.

Aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.

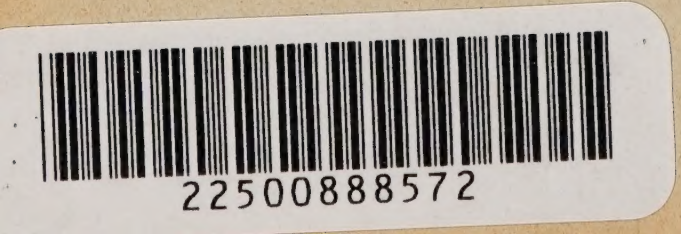
Ueber den Mechanismus der Amboceptorenwirkung.

Von

Prof. Dr. **P. Ehrlich** und Dr. **H. Sachs.**

(Sonderabdruck aus der Berliner klin. Wochenschr., 1902, No. 21.)

WELLCOME INSTITUTE
LIBRARY
Coll. wellMOmec
Coll. pam
No. WH 100
1902
E334



Aus dem Königl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.

Ueber den Mechanismus der Amboceptorenwirkung.

Von

Prof. Dr. **P. Ehrlich** und Dr. **H. Sachs.**

I. Ueber Complementoidverstopfung des Amboceptors.

Die Complemente, welche die Activiruug der Amboceptoren des Blutserums vermitteln, sind bekanntlich nach den Feststellungen von Ehrlich und Morgenroth ebenso wie die Toxine durch zwei Gruppen im Molecül charakterisirt, die haptophore, welche sich mit der complementophilen Gruppe des Amboceptors verbindet, und die zymotoxische, welche die Trägerin der specifischen Complementfunction darstellt. In bester Uebereinstimmung damit konnten Ehrlich und Morgenroth[1]) durch die Erzeugung von Anticomplementen mittels durch Erwärmen inactivirter Sera den Nachweis erbringen, dass die Complemente unter gewissen Bedingungen ebenso wie die Toxine in unwirksame Modificationen übergehen, die durch die Fähigkeit der Antikörpererzeugung das Intactsein ihrer haptophoren Gruppen verrathen und daher in Analogie mit den Toxoiden als Complementoide zu bezeichnen sind. So leicht man nun die Gegenwart der Complementoide durch den Thierversuch erkennen konnte, so wenig gelang es, ihre Reactionsfähigkeit im hämolytischen Reagenzglasversuch zu demonstriren, da eine Beeinträchtigung der Complementwirkung, wie man sie bei den, ja

1) Ehrlich u. Morgenroth, Ueber Hämolysine, V. Mittheilung. Berliner klin. Wochenschr. 1901, No. 10.

ein Gemisch von Amboceptor und Complementoid darstellenden, inactivirten Seris erwarten sollte, selbst bei stärkerer Anhäufung von Complementoiden nach den bisherigen Erfahrungen nicht stattfindet. Ehrlich und Morgenroth haben daher angenommen, dass die haptophore Gruppe des Complements bei der Umwandlung in Complementoid eine Verminderung ihrer Affinität erfährt, eine Annahme, die auch von Myers[1]) für die Toxoide des Cobragiftes gemacht worden ist.

Dass eine solche Herabsetzung der Affinität bei allen Complementen eintreten müsste, ist natürlich absolut nicht nothwendig, bei der grossen Verbreitung und Mannigfaltigkeit der unter dem Begriff „Complement" zusammengefassten Substanzen sogar a priori wenig wahrscheinlich. So haben wir erwartet, im Laufe unserer Untersuchungen geeignete Combinationen aufzufinden, in denen die Affinitätsherabsetzung bei der Complementoidbildung nicht oder nur in geringem Maasse stattfindet, und ein solcher Fall ist uns in der That jüngst begegnet.

Normales Hundeserum löst, wie bekannt, Meerschweinchenblut ziemlich energisch auf. Inactivirt man das Hundeserum, so lässt sich diese hämolytische Fähigkeit durch actives Meerschweinchenserum leicht wiederherstellen, nur muss die Inactivirung bei geeigneter Temperatur (50—51°) erfolgen, da sich bei höheren Temperaturen der Amboceptor des Hundeserums, wie Sachs[2]) gezeigt hat, als thermolabil erweist. Buchner war aus diesem Grunde die Activirbarkeit des Hundeamboceptors entgangen, indem bei der von ihm gewählten Inactivirungstemperatur von 60° die Completirung durch Meerschweinchenserum in der That nicht mehr möglich ist. Bei einer fortgesetzten Analyse dieses interessanten Falles machten wir nun die merkwürdige Beobachtung, dass die Sedimente von Meerschweinchenblutkörperchen, die mit entsprechenden Mengen inactiven Hundeserums eine Stunde lang im Brütschrank vorbehandelt und dann abcentrifugirt waren, sich wider alle Erwartung durch Meerschweinchenserum nicht mehr activiren liessen, während bei gleichzeitigem Mischen aller drei Bestandtheile prompte Hämolyse eintrat (s. Tabelle 1).

Unser erster Gedanke war der, dass der Amboceptor trotz des eine Stunde währenden, relativ langen Contacts mit den

1) Myers, Cobra poison etc., The Lancet 1898.

2) H. Sachs, Giebt es einheitliche Alexinwirkungen? Berliner klin. Wochenschr. 1902, No. 9/10.

Tabelle 1.

Inactivirtes Hundeserum ccm	Lösung des Meerschweinchenbluts[1]) A. Blut + inact. Hundeserum 1 Stunde bei 37°, dann centrifugirt und 0,5 ccm Meerschweinchenserum zu den Sedimenten	B. Blut + inact. Hundeserum + 0,5 ccm Meerschweinchenserum, gleichzeitig gemischt
1. 1,0	0	complet
2. 0,5		„
3. 0,35		„
4. 0,25		„
5. 0,15		fast complet
6. 0		0

1) Die in unseren Versuchen zur Verwendung kommende Blutmenge ist stets 1 ccm einer 5 pCt. Blutaufschwemmung in 0,85 pCt. Kochsalzlösung.

Blutkörperchen vielleicht doch nicht gebunden worden war. Ein solches Verhalten wäre zwar exceptionell, aber immmerhin denkbar und kommt auch, wie wir später sehen werden, wirklich vor. In diesem Falle konnten wir uns aber leicht von der Grundlosigkeit dieser Vermuthung überzeugen. Denn als wir die mit inactivem Hundeserum in der beschriebenen Weise digerirten Meerschweinchenblutkörperchen, ohne die Zwischenflüssigkeit zu entfernen, durch Meerschweinchenserum zu activiren versuchten, blieb die Hämolyse ebenfalls aus. Dass der Amboceptor nicht in der Zwischenflüssigkeit war, ersahen wir auch aus dem Verhalten des Abgusses, den wir durch Centrifugiren des vorbehandelten Blutes gewannen. Liessen wir denselben auf natives Meerschweinchenblut wirken, dem actives Meerschweinchenserum (Complement) zugefügt worden war, so war keine Auflösung zu erzielen. Mithin musste der Amboceptor an die Blutkörperchen gebunden sein.

Wieso hatte er aber durch die vorherige Bindung seine Activirbarkeit verloren? Nach Ausschluss anderer Erklärungsmöglichkeiten wurden wir dazu gedrängt, das beobachtete Phänomen als die Folge einer Verstopfung der complementophilen Amboceptorengruppen des Hundeserums durch die im inactiven Serum noch befindlichen Complementoide aufzufassen. Die Richtigkeit dieser Deutung hat sich uns aufs Beste bestätigt:

1. Durch die isolirte Bindung des Amboceptors bei 0°;

2. durch die nachherige Verstopfung des bei 0° gebundenen Amboceptors mittelst freien Complementoids;

3. durch das Verhalten des durch Schütteln mit Hefe inactivirten Hundeserums;

4. durch den Bindungsversuch mit durch Erwärmen inactivirtem Hundeserum bei erhöhter Salzconcentration.

1. Wiederholten wir den Bindungsversuch in der oben geschilderten Weise, nur mit der Modification, dass wir den Amboceptor nicht bei 37°, sondern bei 0° an die Blutzellen verankerten, so liesen sich die bei 0° vorbehandelten Meerschweinchenblutkörperchen durch Meerschweinchenserum glatt activiren, wie es die folgende Tab. 2 zeigt:

Tabelle 2.

Meerschweinchenblut.

	Inactives Hundeserum ccm	Lösung der Sedimente bei Zusatz von 0,4 ccm Meerschweinchenserum nach Vorhchandlung	
		A. bei 0°	B. bei 37°
1.	1,0	complet	0
2.	0,5	„	
3.	0,35	„	
4.	0,25	„	
5.	0,15	fast complet	
6.	0	0	

Nun wissen wir, dass bei 0° in der Regel nur der Amboceptor von den Blutkörperchen gebunden wird, das Complement aber im Wesentlichen unbeeinflusst bleibt. Es ist daher wohl selbstverständlich, dass in solchen Fällen, in denen die Complementoide ebenso wie die Complemente von den Amboceptoren gebunden werden, diese Bindung ebenfalls unterbleiben wird, wenn der Versuch in der Kälte bei 0° angestellt ist. Durch diese Erwägungen bestätigt sich also unsere Auffassung, dass die Nichtactivirbarkeit der bei 37° sensibilisirten Blutkörperchen durch eine Verstopfung der complementophilen Amboceptorengruppen des Hundeserums durch die Complementoide des eigenen Serums bedingt ist.

2. Es war jetzt noch zu zeigen, dass nach der bei 0° er-

folgten Bindung das die spätere Activirbarkeit verhindernde Moment auch wirklich in der Zwischenflüssigkeit zurückgeblieben ist. Dieser Nachweis gelang leicht auf folgende Weise. Zwei Parallelreihen Meerschweincheublut blieben mit inactivem, d. h. Amboceptor + Complementoid enthaltendem Hundeserum, $1^1/_2$ Stunden bei 0° stehen, dann wurden die Röhrchen von Reihe A centrifugirt und die von der Zwischenflüssigkeit befreiten Sedimente in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die Röhrchen der Reihe B blieben unverändert. Nun kamen alle Röhrchen auf 1 Stunde in den Brütschrank, wurden dann sämmtlich centrifugirt und die Sedimente mit activem Meerschweinchenserum und Kochsalzlösung aufgeschwemmt. In den Röhrchen der Reihe A trat Lösung ein, die Blutkörperchen der Reihe B blieben ungelöst, wie es folgende Tabelle 3 zeigt:

Tabelle 3.

	Inactives Hundeserum	Lösung des Meerschweinchenbluts bei Zusatz von 0,4 ccm Meerschweinchenserum	
	ccm	Reihe A	Reihe B
1.	1,0	complet	Spürchen
2.	0,5	„	
3.	0,35	stark	
4.	0,25	mässig	0
5.	0,15	„	
6.	0	0	

In der Zwischenflüssigkeit der bei 0° sensibilisirten Blutkörperchen war also der die Verstopfung der Amboceptoren verursachende Körper enthalten; denn in der Reihe A, in welcher die Zwischenflüssigkeit abgegossen war, liessen sich die Blutkörperchen trotz eines nachherigen Aufenthalts bei 37° activiren, in der Reihe B dagegen wurden die bei 0° frei gebliebenen Complementoide durch das nachherige Verweilen im Thermostaten noch gebunden und verhinderten so die Completirbarkeit durch actives Serum. Es kann sich nach alledem nur um eine Complementoidwirkung im Reagensglas handeln, und die Richtigkeit dieser Ansicht hat sich uns auch noch in anderer Weise bestätigt.

3. Bekanntlich stellt Hefe nach den Mittheilungen von

v. Dungern[1]), Ehrlich und Sachs[2]) ein ausgezeichnetes Mittel dar, um die Complemente eines Serums zu entfernen. Stellten wir uns nun inactives Hundeserum anstatt durch Erhitzen durch Vorbehandeln mit Hefe dar, oder liessen wir die Complementoide des durch Erhitzen inactivirten Sernms durch Hefe absorbiren, so erwies sich das derart vorbehandelte Hundeserum zur Erzeugung des Verstopfungsphänomens ungeeignet. Die Hämolyse trat in gleicher Weise ein, wenn wir das activirende Meerschweinchenserum sofort zusetzten oder die Blutkörperchen-Hundeserumgemische erst eine Stunde lang im Brütschrank stehen liessen (s. Tabelle 4).

Tabelle 4.

Hundeserum ccm	Lösung des Meerschweinchenbluts bei Zusatz von 0,4 ccm Meerschweinchenserum nach einstündigem Stehen bei 37 °. Hundeserum inactiv:		
	A. durch Schütteln mit Hefe[1])	B. durch Erhitzen	
		a. mit Hefe geschüttelt[1])	b. direkt verwandt
1. 1,0	complet	complet	0
2. 0,5	„	„	
3. 0,35	„	„	
4. 0,25	fast complet	fast complet	
5. 0,15	stark	stark	
6. 0	0	0	

1) 6 ccm Serum werden mit 0,2 gr Hefe ausgeschüttelt.

Die Complementoide waren durch die Hefe eben entfernt worden und die isolirten Amboceptoren reagirten in normaler Weise.

4. Einen weiteren Beweis für die Richtigkeit unserer Auffassung fanden wir in dem Ausfall des Bindungsversuchs bei künstlich erhöhter molecularer Concentration der Zwischenflüssigkeit. Bekanntlich wird die hämolytische Wirkung der Sera durch eine höhere Salzconcentration gehemmt, resp. aufgehoben, und wie die Untersuchungen Markl's[3]) gezeigt haben und wir

1) v. Dungern, Beiträge zur Immunitätslehre. Münchener med. Wochenschr. 1900, No. 20.

2) Ehrlich und Sachs, Ueber die Vielheit der Complemente des Serums, Berl. kl. W. 1902, No. 14/15.

3) Markl, Ueber Hemmung der Hämolyse durch Salze. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 39, 1902.

nach unseren früheren, noch nicht publicirten, umfangreichen Erfahrungen bestätigen können, wird dabei der Amboceptor von den rothen Blutkörperchen gebunden, während das Complement nicht angreifen kann [1]). Unter diesen Verhältnissen musste es bei Richtigkeit der von uns entwickelten Auffassung natürlich auch möglich sein, die Complementoidverstopfung durch geeignete Salzconcentrationen zu verhindern. Wir gingen also in der Weise vor, dass wir zwei Parallelreihen Meerschweinchenblut mit inactivem Hundeserum eine Stunde bei 37° stehen liessen, die eine aber mit einem Zusatz von Ammonsulfat, entsprechend einer Concentration von 1,3 pCt. Dieser Salzzusatz genügt, wie uns specielle Versuche zeigten, um die hämolytische Wirkung selbst grosser Mengen (1 ccm) activen Hundeserums vollständig aufzuheben. Der Ausfall des Versuchs entsprach ganz unserer Erwartung. Die Sedimente der mit Ammonsulfatzusatz vorbehandelten Meerschweinchenblutkörperchen liessen sich durch Meerschweinchenserum completiren, in der anderen Versuchsreihe blieb jede Lösung aus, wie aus folgender Tabelle 5 hervorgeht.

Tabelle 5.

Inactives Hundeserum ccm	Lösung der nach 1 stündigen Aufenthalt bei 37° abcentrifugirten und mit 0,5 ccm Meerschweinchenserum versetzten Meerschweinchenblut-Sedimente, vorbehandelt unter Zusatz von:	
	A. 0,15 ccm 20 pCt. $(NH_4)_2 So_4$	B. 0,15 ccm 0,85 pCt. NaCl
1. 1,0	complet	0
2. 0,5	mässig	
3. 0,35	wenig	
4. 0,25	Spur	

Durch die Analyse dieses Falles ist also zum ersten Male durch den Reagenzglasversuch der Nachweis erbracht, dass Complementoide als unwirksame Modi-

1) Diese Verhältnisse haben übrigens u. E. mit einer Beeinflussung der osmotischen Verhältnisse der Zellmembran, wie Markl es meint, nichts zu thun, vielmehr erscheint uns die Wirkung der Salze durch die Annahme einer durch die erhöhte Concentration bedingten Hemmung der chemischen Verbindung von Amboceptor und Complement in einfachster Weise erklärt. Dass die Salze in diesem Sinne antireactiv wirken, geht ja am besten aus der durch Knorr (Münchener med. Wochenschr. 1898, No. 11/12) ermittelten Thatsache hervor, dass Tetanusantitoxin und Toxin durch eine Zugabe von 10 pCt. NaCl an dem Zusammentritt durchaus gehindert werden.

fications der Complemente im inactiven Serum in der That bestehen. Freilich konnte ihre Existenz auch bisher nicht zweifelhaft erscheinen, da durch die Möglichkeit der Antikörpererzeugung der Beweis für das Erhaltensein der haptophoren Complementgruppen im inactivirten Serum u. E. bereits geliefert war[1]).

---

1) Angesichts dieser neuen Bestätigung möchte ich aber dem Leser eine Darstellung der Complementoidtheorie in der Beleuchtung eines Gegners nicht vorenthalten (Protocoll der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien, Sitzung vom 13. December 1901, Wiener klin. Wochenschr. 1901, No. 51):

„Injicirt man dem Thiere statt actives, inactives Serum derselben fremden Species, so wird sein Serum ebenfalls anticomplementhaltig; Beweis, dass auch das Alexin — wie jedes andere Ding auf der Welt — eine haptophore und eine active Gruppe, diesmal zymotoxische genannt, enthält. Durch das Inactiviren wird die zymotoxische, nicht aber die haptophore Gruppe zerstört, daher Fortdauer der Assimilation des Complementoids und der Production des Anticomplements. Bis hierher geht's noch. Nun kommt aber eine bedenkliche Sache. Wenn das seiner zymotoxischen Gruppe beraubte Complement noch seine haptophore Gruppe besitzt, muss es ja noch seinen Amboceptor sättigen und binden. Wie kommt es dann, dass ein inactivirtes Antiserum durch Zusatz von wirksamem Complement (activem Normalserum) wieder lytisch wird, was ja nach Ehrlich (trotz Dr. Wechsberg) auf der Bildung von Lysin aus Amboceptor und Complement beruht. Wenn die haptophore Gruppe des Amboceptors bereits durch den Rest des alten Complementes, das „Complementoid", gebunden ist, kann sie ja kein neues Complement mehr binden. Also kann beim Erhitzen (Inactiviren) des Serums auch die haptophore Gruppe des Complementes nicht unverändert geblieben sein; sie muss alle Affinität zum Amboceptor verloren haben. Nun frage ich Sie, meine Herren, was ist denn nach dem Erhitzen von dem Complement noch übrig geblieben? Die zymotoxische Gruppe ist zerstört, die haptophore Gruppe bis zur Unkenntlichkeit verändert. Nichts von ihm ist übrig geblieben, als der Wunsch Ehrlich's, dass noch etwas von ihm übrig geblieben sein möchte, weil es sonst mit der Theorie nicht klappt, und dieser Wunsch Ehrlich's ist es, der unter dem Namen Complementoid im inactiven Serum schwimmt."

Soweit Gruber! Ich unterdrücke hier jede persönliche Bemerkung, zu der der gewiss ungewöhnliche Ton der Auslassungen genügend Grund geben würde. Ich beschränke mich darauf, meine grosse Verwunderung darüber auszusprechen, dass in Gruber's Darstellung gerade der wichtigste und erklärende Punkt unberücksichtigt geblieben ist, dass nämlich, wie ich im Verein mit Morgenroth von Anfang an betont habe, die Complemente bei der Umwandlung in Complementoide in der Regel eine Herabsetzung ihrer Affinität erfahren müssen, da sich nur so der Mangel jeglicher störender Interferenz derselben im Reagenzglasversuch erklärt. Wenn aber Gruber eine vollkomme Zerstörung der Complemente beim Inactiviren annimmt, wie erklärt er dann die ja jedem leicht gelingende Erzeugung von Anticomplement durch Einführung von erhitztem Serum in den Organismus? Ein im Serum schwimmender Wunsch kann doch unmöglich ausreichen, um Anticomplemente zu erzielen! Ehrlich.

Im Gegensatz zum sonstigen Verhalten müssen wir in dem beschriebenen Falle annehmen, dass die Affinität des Complements durch die Complementoidbildung keine sehr erhebliche Verminderung erfahren hat. Es spricht auch hierfür eine kleine Versuchsreihe, die wir angestellt haben, um durch Ermittelung der niedrigsten Temperatur, bei welcher die Verankerung des Complementoids noch erfolgt, ein ungefähres Criterium für seine relative Affinität zu erlangen. Aus der Activirbarkeit der bei verschiedenen Temperaturen mit inactivem Hundeserum vorbehandelten Meerschweinchenblutkörperchen ergab sich, dass schon bei 3° eine mässige Bindung der Complementoide stattfindet und das vollständige Verstopfungsphänomen bereits bei 8° zu erzielen ist, wie es folgender Versuch zeigt. (S. Tabelle 6).

Tabelle 6.

Inactives Hundeserum ccm	Lösung des Meerschweinchenbluts bei Zusatz von 0,5 ccm Meerschweinchenserum nach Vorbehandlung bei:			
	A. 0°	B. 3°	C. 6°	D. 8°
1. 1,0	complet	mässig	Spürchen	0
2. 0,75	fast complet	„		
3. 0,5	stark	„		
4. 0,35	mässig	wenig		

Indessen glauben wir doch, dass eine gewisse, wenn auch geringe Herabsetzung der Affinität bei der Complementoidbildung auch in diesem Falle stattfindet.. Wenigstens spricht dafür die Thatsache, dass bei gleichzeitigem Zufügen von inactivem Hundeserum (i. e. Amboceptor + Complementoid) und activem Meerschweinchenserum Auflösung des Meerschweinchenbluts erfolgt. Es wird also unter diesen Verhältnissen, in denen dem Amboceptor Complement und Complementoid zur Auswahl stehen, das erstere bevorzugt. Wenn es aber bei der Vorbehandlung mit Complementoid gelingt, die complementophile Gruppe des Amboceptors für das später zugefügte Complement zu verstopfen, so werden wir dies in einfachster Weise dadurch zu erklären haben, dass nach erfolgter Verankerung des Complementoids ein Festerwerden der Bindung eintritt. Analoge Erscheinungen finden sich ja vielfach im Immunitätsgebiet. So hat

Dönitz[1]) den Nachweis erbracht, dass die Festigkeit der Bindung des Diphtheriegiftes im thierischen Körper, anfangs eine lockere, sehr bald derart zunimmt, dass sie selbst durch ausserordentlich grosse Antitoxinmengen nicht mehr gesprengt werden kann, und in gleichem Sinne sprechen die Versuche Madsen's[2]), den Blutzellen das einmal an sie gebundene Tetanolysin durch Antitoxin wieder zu entreissen.

Auch für die Technik des Amboceptorennachweises ist die Complementoidverstopfung von besonderer Bedeutung. Wenn man sich nämlich in zweifelhaften Fällen von der Existenz der Amboceptoren in der üblichen Weise durch Sensibilisirung von rothen Blutkörperchen und nachherige Completirung mit andersartigem Serum zu überzeugen sucht, so kann durch die sperrende Wirkung der Complementoide natürlich ein Fehlen der Amboceptoren vorgetäuscht werden. In diesem Sinne ist es von besonderem Interesse, dass ein so ausgezeichneter Forscher wie Buchner[3]), der sich gerade in dem uns hier beschäftigenden Falle der erwähnten Methode zur Hämolysinanalyse bediente, beim Nachweis der Amboceptoren ausser an deren bereits erwähnter Thermolabilität[4]) auch an der von ihm gewählten, für diesen speciellen Fall unbrauchbaren Versuchsanordnung scheitern musste.

II. Amboceptor oder Sensibilisator?

Eine andersartige, für das Gelingen des Amboceptorennachweises bei schematischem Vorgehen gleich fatale Complication ist uns in einem anderen Falle begegnet, der auch für die Theorie der Hämolysinwirkung von ganz besonderem Interesse ist. Er betrifft die hämolytische Kraft des Ochsenserums für Meerschweinchenblut. Inactivirt man Ochsenserum, so kann die-

---

1) Dönitz, Ueber die Grenzen der Wirksamkeit des Diphtherieheilserums. Arch. internat. de Pharmacodynamie. Vol. V. 1899.

2) Madsen, Ueber Heilversuche im Reagensglas. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 32. 1899.

3) H. Buchner, Sind die Alexine einfache oder complexe Körper? Berliner klin. Wochenschr. 1901. No. 33.

4) Nach den mitgetheilten neuen Erfahrungen wäre es denkbar, dass die Thermolabilität der Amboceptoren dadurch vorgetäuscht wird, dass die ohnehin relativ aviden Complementoide durch die grössere Wärmezufuhr bereits fest an die Amboceptoren gekettet werden. Wie uns specielle Versuche gezeigt haben, findet aber ein solches Verhalten nicht statt, da das durch Schütteln mit Hefe inactivirte, also complementoidfreie, Hundeserum durch Erhitzen auf 60° seine Activirbarkeit ebenfalls einbüsst, nicht aber, wenn es nur auf 50—51° erwärmt wird.

selbe durch Zufügen von activem Pferdeserum leicht wiederhergestellt werden. Versucht man indessen, Blutkörperchensedimente, die durch Centrifugiren des 1 Stunde bei 37° mit inactivem Ochsenserum vorbehandelten Meerschweinchenbluts gewonnen sind, durch actives Pferdeserum zu completiren, so bleibt, ganz wie im vorigen Falle, die Hämolyse aus. Der principielle Unterschied in der Ursache der Nichtactivirbarkeit tritt aber mit Evidenz hervor in dem Verhalten der abgegossenen Zwischenflüssigkeit. Unterlässt man nämlich das Abcentrifugiren und fügt den sensibilisirten Blutkörperchen, ohne die Zwischenflüssigkeit zu entfernen, actives Pferdeserum zu, so erfolgt die Auflösung, und in ganz entsprechender Weise verhalten sich, wenn man centrifugirt, die Abgüsse, indem sie, mit activem Pferdeserum gemischt, natives Meerschweinchenblut zur Auflösung bringen. In folgender Tabelle 7 ist ein vollständiger Versuch wiedergegeben.

Tabelle 7.

Inactives Ochsenserum ccm	Lösung des Meerschweinchenbluts nach Zufügen von 0,5 ccm Pferdeserum zu: A den abcentrifugirten Sedimenten nach 1 Std. Stehen bei 37°	B den Abgüssen von A, auf natives Meerschweinchenblut gegossen	C den nicht centrifugirten Blut-Ochsenserumgemischen a nach 1 stünd. Stehen bei 37°	C b sofort
1. 0,5	Spürchen	complet	complet	complet
2. 0,35	0	„	„	„
3. 0,25		„	„	„
4. 0,15		stark	fast complet	fast complet
5. 0,1		mässig	stark	stark
6. 0		0	0	0

Der Amboceptor ist also im Gegensatz zu dem Verhalten in dem ersten von uns mitgetheilten Falle im Abguss geblieben, also überhaupt nicht oder doch nur in sehr geringem Grade von den Blutkörperchen gebunden worden. Es ist daher selbstverständlich, dass auch unsere Versuche, die bei 0° mit inaktivem Ochsenserum vorbehandelten und dann abcentrifugirten Meerschweinchenblutkörperchen mit Pferdeserum zu activiren, scheitern mussten.

In ganz analoger Weise verlief natürlich auch der Versuch, wenn das Ochsenserum durch Ausschütteln mit Hefe complementoidfrei gemacht worden war.

Dieses sonderbare Verhalten, dass der Amboceptor allein gar nicht an die Zelle herantritt, sondern erst dann, wenn er mit dem Complement verbunden ist, seine Wirkung zu entfalten vermag, ist wiederum für die Methodik der Hämolysinanalysen von besonderer Bedeutung. Denn abgesehen davon, dass der Versuch, die abcentrifugirten, vermeintlich „sensibilisirten", Blutzellen zu activiren, unter diesen Verhältnissen natürlich fehlschlagen muss, werden auch die ohnehin schon eng gezogenen Grenzen der zweiten zur Erkenntniss der complexen Constitution der Hämolysine geeigneten Methode, der Trennung in der Kälte, durch das Vorkommen einer derartigen Complication noch erheblich eingeschränkt. Denn die Kältetrennungsmethode beruht ja auf der Erfahrung, dass bei 0° gewöhnlich nur die Amboceptoren an die Blutzellen, nicht aber die Complemente an die Amboceptoren gebunden werden. Wenn aber, wie in dem beschriebenen Falle, die Bindung Amboceptor-Zelle erst von der erfolgten Verankerung Amboceptor-Complement abhängig ist, wie soll sich dann eine Trennung der beiden Componenten erreichen lassen, da ja die für die Bindung des Amboceptors an die Zelle hier bestehende conditio sine qua non einerseits bei niedriger Temperatur nicht erfüllt werden kann, andererseits an sich eine Trennung überhaupt ausschliesst! Kein Wunder daher, dass auch Gruber[1]) gerade in diesem Falle (Meerschweinchenblut — actives Ochsenserum) die Kältetrennung nicht gelang!

Die von uns hier mitgetheilten beiden atypischen Fälle sind aber auch ganz besonders geeignet, den Mechanismus der Hämolysinwirkung in eindeutiger Weise zu beleuchten. Kann man schon in dem ersten Falle die Thatsache, dass die doch in üblicher Weise „sensibilisirten" Blutkörperchen der Einwirkung des Complementes widerstehen, mit der Bordetschen Auffassung kaum erklären, so fällt das im zweiten Falle mitgetheilte Verhalten aus dem Rahmen der Erklärungsmöglichkeit gänzlich heraus, wenn man sich mit Bordet den Vorgang der Hämolysinwirkung in der Weise vorstellt, dass die Ambo-

---

1) Gruber, Zur Theorie der Antikörper. Münchener med. Wochenschrift. 1901. No. 49, siehe dazu auch H. Sachs, l. c.

ceptoren (substance sensibilisatrice Bordet's) die Blutkörperchen sensibilisiren und sie so der Einwirkung der direkt an sie angreifenden Complemente (Bordet's Alexine) zugänglich machen. Denn hier haben wir ja in sinnfälliger Weise gezeigt, dass eine Sensibilisirung überhaupt nicht stattfindet; der Amboceptor wird an sich gar nicht gebunden, sondern erst durch das Zufügen von Complement reactionsfähig gemacht. Wollten wir aber annehmen, dass das Complement in unserem Falle trotzdem direkt an die Zelle angreift und dadurch erst die Bindung des Amboceptors ermöglicht, so würden wir zu einer Theorie gelangen, die von derjenigen Bordet's ebenso weit entfernt ist, wie die von Ehrlich und Morgenroth vertretene, die aber in ganz unerhörter Weise eine nur für diesen einen oder vielleicht wenige Fälle giltige Ausnahme darstellen würde. Zum Ueberfluss haben wir den entsprechenden Versuch trotzdem angestellt und gefunden, dass das Complement als solches, wie nicht anders zu erwarten war, auch in diesem Falle von der Zelle überhaupt nicht gebunden wird.

Aber die Thatsachen erklären sich in einfachster Weise, wenn wir nach dem Vorgang von Ehrlich und Morgenroth den Amboceptor als ein mit zwei haptophoren Gruppen versehenes Bindeglied auffassen, das die Wirksamkeit des Complements auf die Zelle durch deren beiderseitige Fesselung überträgt. Dass in diesem Falle die cytophile Gruppe des Amboceptors eine sehr geringe Verwandtschaft zum Zellreceptor hat, folgt ja eo ipso aus unseren Versuchen. Wir haben also nur anzunehmen, dass im Gegensatz zum gewöhnlichen Verhalten bei der beschriebenen Combination der Amboceptor, an sich unbefähigt, sich mit der Zelle zu verbinden, durch die Verankerung des Complements eine Erhöhung seiner Affinität erfährt und dadurch erst reactionsfähig wird.

Auf die Bedeutung der Affinitätsschwankungen soll demnächst im Zusammenhang ausführlich eingegangen werden. Wir begnügen uns hier mit dem Hinweis, dass ohne die chemisch ja selbstverständliche Annahme, dass bestimmte haptophore Gruppen durch Aenderung des Gesammtmoleküls Erhöhung oder Verringerung ihrer chemischen Energie erfahren, ein Verständniss der Immunitätserscheinungen nicht möglich ist. Wir glauben, dass die hier mitgetheilten Beobachtungen ein neuer Beweis dafür sind, dass Amboceptor und Complement sich mit einander vereinigen. Principiell ist diese Frage durch die

schönen Untersuchungen M. Neisser's und Wechsberg's[1]) über die Complementablenkung durch überschüssigen Amboceptor bereits entschieden, und die Einwände, die gegen diese Versuche von Gruber[2]) und Metschnikoff[3]) erhoben worden sind, sind durch die neueren Untersuchungen Lipstein's[4]) vollkommen widerlegt.

Der von uns zuletzt beschriebene Fall stellt gewissermaassen ein Experimentum crucis dar für die Richtigkeit der Anschauungen, die Ehrlich und Morgenroth über den Mechanismus der Hämolysinwirkung aufgestellt haben, und so glauben wir, dass die Bordet'sche Sensibilisirungstheorie unhaltbar geworden ist, und dass ebenso, wie dies in der Frage der Pluralität der Complemente geschehen ist, die Akten über diesen langen Kampf nunmehr geschlossen sind. —

---

1) M. Neisser und F. Wechsberg, Ueber die Wirkungsart bactericider Sera. Münchener med. Wochenschr. 1901. No. 18.

2) Gruber, Protocoll der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien. Wiener klin. Wochenschrift. 1901. No. 50.

3) Metschnikoff, l'Immunité dans les maladies infectienses, p. 313, Paris 1901.

4) A. Lipstein, Die Complementablenkung etc. Centralbl. f. Bacteriol. I. Bd. 21. 1902.

Druck von L. Schumacher in Berlin.